Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR ZELLPROLIFERATION IM HYPOPHYSENVORDERLAPPEN WÄHREND DER LEBER- UND NIERENREGENERATION

- Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion -

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Franz-Jochen Löffler
aus Klein Giesen

Würzburg 1970

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

ZUR ZELLPROLIFERATION IM HYPOPHYSENVORDERLAPPEN WÄHREND DER LEBER- UND NIERENREGENERATION

- Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion -[+])

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Franz-Jochen Löffler
aus Klein Giesen

Würzburg 1970

[+]) Die Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Referent: Professor Dr. med. E. S t ö c k e r

Korreferent: Professor Dr. med. H.-W. A l t m a n n

Tag der Promotion:

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I	VORAUSSETZUNG UND FRAGESTELLUNG	1
II	MATERIAL UND METHODE	5
2. 1.	Tiermaterial	5
2. 2.	Operationstechnik	5
2. 2. 1.	2/3-Teilhepatektomie	5
2. 2. 2.	Einstündige temporäre linksseitige Nierenischaemie	5
2. 2. 3.	Linksseitige Nephrektomie	6
2. 2. 4.	Scheinoperationen	6
2. 3.	Versuchsanordnung	7
2. 3. 1.	Kontrollserien	7
2. 3. 2.	Versuchsserien	7
2. 3. 2. 1.	Typische 2/3-Teilhepatektomie	7
2. 3. 2. 2.	Einstündige temporäre linksseitige Nierenischaemie	8
2. 3. 2. 3.	Unilaterale linksseitige Nephrektomie	8
2. 3. 3.	Scheinoperationen	8
2. 4.	Technik der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion	8
2. 5.	Autoradiographische Technik	10
2. 6.	Auswertung der Autoradiogramme	10
2. 6. 1.	HE gefärbte Autoradiogramme	11
2. 6. 2.	PAS vor- und Haematoxylin-Methanilgelb nachgefärbte Autoradiogramme	12
III	ERGEBNISSE UND ERÖRTERUNGEN	13
3. 1.	Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei Kontrollen	13
3. 2.	Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei Versuchstieren	19
3. 3.	Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei scheinoperierten Ratten	23
3. 4.	Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation in differenzierten Zellkollektiven	24
3. 5.	Zur mesenchymalen hypophysären Zellproliferation bei Kontrollen und Versuchstieren	33
3. 6.	Zur Deutung der autoradiographischen Befunde	34
IV	ZUSAMMENFASSUNG	35
	Tabellen (Anhang)	38

I VORAUSSETZUNG UND FRAGESTELLUNG

Autoradiographische Untersuchungen von RABES, WRBA und BRÄNDLE (1965), RABES, WRBA, EDER und BRÄNDLE (1965) und RABES (1968) haben gezeigt, daß die Hypophyse auf den zeitlichen Ablauf der parenchymatösen Leberregeneration einen Einfluß nimmt. Denn führte man eine Teilhepatektomie an zuvor hypophysektomierten Ratten durch, so setzte die Regenerationswelle in der Leber verzögert ein, verlief aber dann - was den Umfang anbelangt - etwa so wie im nicht hypophysektomierten Tier.

Wir interessierten uns für die hypophysäre Zellproliferation im Verlauf eines die Leber und Niere gezielt treffenden Regenerationsprozesses. Aus diesem Grunde nahmen wir Proliferationsstudien im Hypophysenvorderlappen (HVL) der männlichen Ratte nach Gabe von ^{3}H-Thymidin vor, und zwar einmal an solchen Tieren, denen wir in der Leber durch eine 2/3-Teilhepatektomie oder zum anderen in der Niere durch eine einstündige unilaterale, temporäre Ischaemie bzw. durch eine unilaterale Nephrektomie einen organspezifischen Regenerationsimpuls gesetzt hatten.

Die Zellen des Hypophysenvorderlappens unterschieden wir in Mesenchymzellen und Parenchymzellen; zusätzlich versuchten wir zu differenzieren, wie die einzelnen Parenchymzelltypen (Chromophobe, Acidophile, Thyreotrope, Gonadotrope) an der Proliferation beteiligt waren. Auch führten wir einige Scheinoperationen durch, um der Frage nachgehen zu können, ob die Beeinflussung der hypophysären Zellneubildung tatsächlich auf den sich abspielenden Regenerationsprozessen in Leber- und Nierenparenchym beruht, oder ob vielleicht die

Streßsituation infolge der operativen Prozedur als ursächlicher Faktor mit in Betracht gezogen werden muß.

Mit der Autoradiographie lassen sich synthetische Vorgänge, die in den Zellen ablaufen, im histologischen Schnitt sichtbar machen. Man kann also Synthesevorgänge in den Zellen oder verschiedenen Zelltypen eines Organes an lebenden Tieren erkennen.

Seit REICHARD und ESTBORN 1951 gilt das Nucleosid Thymidin als ein selektiver Vorläufer für die Desoxyribonukleinsäure. Durch die Entwicklung Tritium markierten Thymidins (HUGHES, BOND, BRECHER, CRONKITE, PAINTER, QUASTLER und SHERMAN 1958) wurde die autoradiographische Untersuchung der DNS-Synthese sehr erleichtert.

Thymidin ist nach einmaliger Injektion im Organismus etwa 40 - 60 Min. verfügbar und kann in dieser Zeit entweder abgebaut oder in DNS eingebaut werden (POTTER 1959, ZAJICEK, BERNSTEIN, ROSIN und GROSS 1963). Dieser Zeitraum wird als "Verfügbarkeitszeit" des Thymidin bezeichnet (HUGHES, BOND, BRECHER, CRONKITE, PAINTER, QUASTLER und SHERMAN 1958; CRATHORN und SHOOTER 1960; JOHNSON, RUBINI, CRONKITE und BOND 1960; LOONEY 1960, 1965; KOBURG und SCHULTZE 1961; MAURER und KOBURG 1961; KOBURG und MAURER 1962; KOBURG 1963; STAROSCIK, JENKINS und MENDELSON 1964; CHANG und LOONEY 1965; vgl. PELC und APPLETON 1965; Lit. bei STÖCKER 1966.

Nach Gabe von ^{3}H-Thymidin werden autoradiographisch jene Zellen markiert, die während der Verfügbarkeitszeit des Thymidins DNS synthetisieren. Dadurch ist es möglich, über DNS-Synthese und somit über Proliferationsvorgänge der Zellen oder verschiedenen

Zelltypen eines Organes Aussagen zu machen. Bei den bisherigen Untersuchungen wurde jedoch meistens die Proliferation autoradiographisch nach einmaliger ^{3}H-Thymidin-Injektion untersucht. Ein relativ schwacher Proliferationsreiz kann aber nur zu einer geringen Erhöhung DNS-synthetisierender Kerne führen. Daher wird der statistische Fehler der kleinen Zahl markierter Zellen verhältnismäßig groß.

Mit einem neueren autoradiographischen Verfahren, der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion (Lit. bei SCHULTZE 1966, 1968; SCHULTZE, LÖBBECKE und MAURER 1967, 1968; FLIEDNER, HAAS und STEEHLE 1967; LÖBBECKE, SCHULTZE und MAURER 1969)läßt sich dieser Fehler weithin ausschalten. Die Methode der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion hat gegenüber einer einmaligen Injektion den großen Vorteil, daß man das ^{3}H-Thymidin bis zu mehreren Tagen dem Organismus der Versuchstiere zuführen, also die Verfügbarkeitszeit beliebig verlängern kann. Es folgt, daß a l l e während der gesamten Versuchszeit an der DNS-Synthese oder der postmitotischen Verteilung von Radioaktivität beteiligten Kerne im Autoradiogramm geschwärzt zu erkennen sind. Das ^{3}H-Thymidin steht also während der gesamten Dauerinfusionszeit zur Verfügung. Der statistische Fehler der kleinen Zahl markierter Kerne wird demzufolge sehr klein, weil die Zahl autoradiographisch geschwärzter Kerne direkt proportional der Länge der während der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion in die DNS-Synthese eintretenden Kerne ist und somit natürlich erheblich größer wird als nach einmaliger ^{3}H-Thymidin-Injektion. Die Aussage über den Proliferationsablauf in einem Organ des Versuchstieres im Vergleich zum Kontrolltier wird wesentlich genauer. Aus diesen Gründen und da die hypophysäre Zellerneuerung an ausgewachsenen Ratten - wie in stabilen Organen allgemein - verhältnismäßig träge abläuft (DHOM und STÖCKER 1964, 1965; KNUTSON 1966; TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH 1968; STÄDTLER, STÖCKER,

DHOM, TIETZE 1969) führten wir unsere Untersuchungen mit Hilfe der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion durch. Dem Tier wurde vor der Operation ein Schwanzvenenkatheter bis in die Beckenvene eingeführt und die Dauerinfusion begann unmittelbar nach den angegebenen Operationen.

II MATERIAL UND METHODE +)

2. 1. Tiermaterial

Wir benutzten 140 männliche Albinoratten (Sprague-Dawley-Inzuchtstämme). Die Tiere bekamen standardisiertes Trockenfutter (Altromin^{R}) und Wasser zur freien Verfügung.

2. 2. Operationstechnik

Die Operationen wurden in möglichst oberflächlicher Äthernarkose durchgeführt.

2. 2. 1. 2/3-Teilhepatektomie

Die Tiere wurden in Rückenlage mit gestreckten Extremitäten auf dem Operationstisch fixiert. Dann folgte ein Bauchschnitt. Nun wurde zunächst der mittlere Leberlappen möglichst tief unterbunden und danach distal von der Unterbindung abgetrennt. Anschließend wurde die Abtrennung des linken Seitenlappens auf die gleiche Weise vorgenommen. Der Blutverlust war meist sehr gering. Danach wurden die während der Operation gelegentlich aus der Bauchhöhle ausgetretenen Darmschlingen zurückverlagert. Die Bauchhöhle wurde durch Muskel- und anschließender Hautnaht verschlossen.

2. 2. 2. Einstündige temporäre linksseitige Nierenischaemie

Nach einem dorsalen Medianschnitt in Höhe der unteren Brust- und Lendenwirbelsäule wurden die paravertebralen Muskelbündel stumpf

+) Frau H. Liebscher, Fräulein A. Ühlein und Ch. Kohaut danke ich herzlich für ihre Hilfe bei der technischen Durchführung der Untersuchungen.

gespalten und dadurch der Retroperitonealraum freigelegt. Nun wurde die Niere aufgesucht, nach außen hervorgezogen und die Kapsel dorsal ihrer Duplikatur mit dem Peritoneum scharf durchtrennt. Danach wurde das Organ dekapsuliert. Anschließend wurden die Gefäße des Nierenhilus mit einer Arterienklemme (die Branchen waren mit Ventilgummi überzogen) für 60 Minuten abgeklemmt. Während dieser Zeit wurde die Niere reponiert. Nach Abnehmen der Klemme wurde zunächst die Wiederdurchblutung des Organes abgewartet. Dann wurde die Muskulatur durch Naht verschlossen und die Hautwunde geklammert. Nach dem Eingriff war den Tieren Wasser und Futter frei zugänglich. Die Narkosedauer betrug ca. 70 Minuten.

2. 2. 3. Linksseitige Nephrektomie

Nach paravertebralem, retroperitonealen Dorsalschnitt wurde die Niere ähnlich wie bei der unilateralen Nierenischaemie dekapsuliert und die Gefäße des Nierenhilus wurden abgeklemmt und sorgfältig unterbunden. Danach erfolgten die Durchtrennung der Nierengefäße und die Ektomie der Niere unter Zurücklassung der Nebenniere, anschließend wieder Verschluß der Wunde. Nach dem Eingriff erhielten die Tiere Futter und Wasser ad libidum.

2. 2. 4. Scheinoperationen

Bei den Scheinoperationen wurden die gleichen Manipulationen an eben ausgewachsenen Tieren wie bei der 2/3-Teilhepatektomie, der temporären, einstündigen, linksseitigen Nierenischaemie und der unilateralen linksseitigen Nephrektomie vorgenommen, lediglich unterblieb die eigentliche operative Prozedur.

2. 3. Versuchsanordnung

Sofort nach der Operation begann die ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion über einen vor der Operation bereits bis in Höhe der Beckenvene eingeführten Schwanzvenenkatheter. Die Versuchstiere wurden folgendermaßen aufgeschlüsselt:

2. 3. 1. Kontrollserien

a) juvenile, 3 - 4 Wochen alte, ca. 60 g schwere Ratten. Dauerinfusionszeit: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 4; 5; 6; 7; 10; 13; 15; 16 d (= Tage); 1 - 2 Tiere pro Zeitpunkt. (Eine 20-tägige Infusionszeit ist uns bei den juvenilen Tieren nicht gelungen. Starke Thrombophlebitiden im Schwanzbereich, Schwanzwurzelnekrosen oder Ulcera der Schwanzwurzel zwangen zum vorzeitigen Abbruch der Versuche.)

b) eben ausgewachsene, 2 - 4 Monate alte, um 250 g schwere Tiere. Dauerinfusionszeit: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 5,5; 7; 10; 20 d; 1 - 4 Tiere pro Zeitpunkt.

c) senile, über 2,5 Jahre alte, ca. 430 g schwere Tiere. Dauerinfusionszeit: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7; 10; 20 d; 1 Tier pro Zeitpunkt.

2. 3. 2. Versuchsserien

2. 3. 2. 1. Typische 2/3-Teilhepatektomie an

a) juvenilen Ratten; Infusionszeit: 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7; 10 d; 1 - 2 Tiere pro Zeitpunkt, (eine 20-tägige Infusion gelang nicht),

b) eben ausgewachsenen Ratten; Infusionszeit: 1; 2; 2,5; 3; 4; 7,5; 20 d; 1 - 6 Tiere pro Zeitpunkt,

c) senilen Ratten; Infusionszeit: 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6,5; 7,5; 20 d; 1 - 2 Tiere pro Zeitpunkt.

2. 3. 2. 2. Einstündige temporäre linksseitige Nierenischaemie

an eben ausgewachsenen Ratten; Infusionszeit: 0, 5; 1; 1, 5; 2; 2, 5; 3; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 20 d; 1 - 2 Tiere pro Zeitpunkt.

2. 3. 2. 3. Unilaterale linksseitige Nephrektomie

an eben ausgewachsenen Ratten; Infusionszeit: 1; 1, 5; 2; 2, 5; 3; 4; 5; 6; 7; 20 d; 1 - 3 Tiere pro Zeitpunkt.

2. 3. 3. Scheinoperationen an

eben ausgewachsenen Ratten; Infusionszeit: bei der Scheinhepatektomie 20 d, Scheinischaemie 8 und 20 d, Scheinnephrektomie 9 d, 20 d; die 20-tägigen Infusionen wurden jeweils an zwei Tieren ausgeführt.

2. 4. Technik der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion

Mit einem schon von SCHULTZE benutzten Gerät wurden die Dauerinfusionen durchgeführt.[+])

Während die Ratten unter leichter Äthernarkose standen, wurde ein Kunststoffkatheter (Polyäthylen, innerer Durchmesser 0, 5 mm, äußerer Durchmesser 1, 0 mm) zunächst über einer Flamme ausgezogen und anschließend den Ratten in die Schwanzvene eingeführt. Der Katheter wurde ausreichend befestigt. Über den Schwanz wurde ein Plastikrohr geschoben und an dem Vorratsgerät für das ^{3}H-Thymidin (s. u.) befestigt, damit die Tiere sich nicht losbeißen konnten. (SCHULTZE, LÖBBECKE und MAURER 1967, 1968; LÖBBECKE, SCHULTZE und MAURER 1969). Anschließend wurde sofort die jeweilige Operation durchgeführt und nach deren Beendigung sogleich

---

[+]) Herrn Prof. Dr. W. Maurer, Direktor des Institutes für Medizinische Strahlenkunde der Universität Würzburg, und Frau Doz. Dr. Brigitte Schultze danken wir für die Überlassung des Gerätes.

die Dauerinfusion begonnen. Die Anlage für die Dauerinfusion ist wie folgt aufgebaut: Eine Mikropumpe [+]) drückt kontinuierlich 1,5 ml Wasser pro 24 Stunden über einen Kunststoffschlauch (1 mm lichte Weite) in einen Kunststoffzylinder. Eine Gummimembran teilt den Innenraum dieses Zylinders streng in zwei Räume. Das in den oberen Raum einströmende Wasser expandiert kontinuierlich - entsprechend der Schubwirkung der Pumpe - diese Membran und treibt somit das in dem unteren Raum befindliche ^{3}H-Thymidin (s. o.: ^{3}H-Thymidin-Vorratsgerät) in den sich anschließenden Katheter, der bereits vorher in die Schwanzvene des Versuchstieres einzuführen war (s. o.). Pro 5 ml ^{3}H-Thymidin wurde etwa ein Tropfen Heparin und NaCl bis zur Isotonie zugesetzt. Die mittlere infundierte Aktivitätsmenge beträgt 1,5 mCi/24 h - in wenigen Fällen um den Faktor 4 verdünnt (spez. Akt. 3,0 - 6,0 Ci/m Mol, (SCHWARZ, Bio-Research, New York). Angelehnt an die Methode von EVE und ROBINSON (1963) ist in dem Schubsystem ein "Swivel" angebracht, der aus 2 dicht aufeinanderliegenden, aber frei gegeneinander verschieblichen luft- und wasserundurchlässigen Teflonscheiben besteht. Dadurch kann sich die Ratte in ihrem Glaskäfig während der Infusionszeit frei bewegen und beliebig an Futter und Wasser gelangen. Eine Stunde vor Tötung der Ratte wird die Pumpe abgeschaltet. So wird noch die restliche Verfügbarkeitszeit des ^{3}H-Thymidins von 40 - 60 Min. ausgenutzt. Die gesamte radioaktive Versuchszeit - d. i. das Zeitintervall vom Beginn der Dauerinfusion bis zur Tötung - ist demzufolge also 1 Stunde länger als die tatsächliche Dauerinfusionszeit.

[+]) Bei einem Teil der Tiere benutzten wir zwei SAGE-Pumpen (Modell Nr. 255-3; Pumpenmotor mit Geschwindigkeitsregulierung; Firma Donald J. Moore, Wellersley, Mass. USA; Import G. Schmidt, Hamburg). Die Pumpen waren eine Leihgabe der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

2. 5. Autoradiographische Technik

Die nach Tötung des Tieres entnommene Hypophyse wurde für 48 Stunden bei 4° C in neutralem 10%igem Formalin fixiert, dem - zum Austausch nicht an neugebildete DNS gebundenen ^{3}H-Thymidins - hochkonzentriertes kaltes Thymidin (0,5 mg/ml) zugegeben worden war. Nach den üblichen Standardverfahren (24-stündiges Wässern, aufsteigende Alkoholreihe, Methylbenzoat, Benzol) wurden die Organe in Paraffin eingebettet und geschnitten. Unmittelbar vor der Autoradiographie wurden die 3 - 4 µ dicken, entparaffinierten Schnitte - zum nochmaligen Austausch nicht an neugebildete DNS gebundenen ^{3}H-Thymidins - ein weiteres Mal mit Waschlösungen inaktiven Thymidins gleicher Konzentration bearbeitet. Die Autoradiographie wurde in Anlehnung an PELC (PELC 1947, 1956; Lit. bei B. SCHULTZE 1968) mit "stripping film" (Kodak, Ar 10, Stuttgart) durchgeführt. Die Expositionszeit der Autoradiogramme betrug bei 4° C in trockener Luft 10 - 100 Tage. Die meisten Autoradiogramme wurden mit HE gefärbt. Die Eindeckung erfolgte mit Glyceringelatine. Die typendifferentiellen Färbungen wurden wie folgt durchgeführt: Einige Schnitte wurden in Anlehnung an die Methode von SIPERSTEIN (1963; vergl. DHOM, STÖCKER 1964; TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH 1968; STÄDTLER, STÖCKER und TIETZE 1969; STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE 1970) vor der Autoradiographie mit PAS und nach Exposition und Fixation mit Haematoxylin-Methanilgelb gefärbt.

2. 6. Auswertung der Autoradiogramme

Die Schnitte werteten wir mit einem Zeiss-Mikroskop aus. Unter Benützung eines Okular-Netzmikrometers ermittelten wir bei 1280-facher Vergrößerung (8 x 100 Oelimmersion x 1,6) - bei einigen Autoradiogrammen auch mit 1600-facher Vergrößerung (8 x 100 Oelimmersion x 2) - den Markierungsindex (= Prozentsatz

aller im Verlauf der radioaktiven Versuchszeit DNS-synthetisierender oder postmitotisch markierter Kerne bezogen auf alle ausgewerteten Zellen) im Hypophysenvorderlappen. Es wurden zumeist Präparate mit einer Expositionszeit von 40 (60) Tagen verwendet. Ein Kern wurde nur dann als solcher mitgezählt, wenn die Kernmembran wenigstens teilweise scharf einstellbar war; und ein Kern galt erst dann als markiert, wenn drei oder mehr Silberkörner über ihm zu erkennen waren. Bei den Auszählungen wurden Schnitte mit einem zu hohen Nulleffekt neu angefertigt.

2. 6. 1. H. E. gefärbte Autoradiogramme

Bei mäanderförmiger Durchmusterung der Präparate wurden zunächst 50 aufeinanderfolgende Blickfelder ausgezählt. Als Blickfeld bezeichnen wir das durch das Netzmikrometer vorgegebene Quadrat. Dabei wurden die Kerne, welche die linke und untere Außenlinie des Netzes berührten oder anschnitten, mitgezählt, während jene Kerne, welche die rechte oder obere Außenlinie berührten oder anschnitten, nicht registriert wurden. Aus der Form der Kerne unterschieden wir in Parenchymzellen und Mesenchymzellen, wobei hierunter Gefäß- und Bindegewebszellen zu verstehen sind. Aus den oben erwähnten 50 Blickfeldern errechneten wir die durchschnittliche Zellzahl an Parenchym- bzw. Mesenchymzellen pro Blickfeld. Nach 25 Blickfeldern wurde jeweils schon ein Zwischenwert ermittelt, um eventuelle größere Schwankungen zu erkennen. Von insgesamt 200 und mehr Blickfeldern bestimmten wir die Zahl der markierten Parenchym- und Mesenchymzellen. Mit Hilfe der zuerst registrierten mittleren Zellzahl pro Blickfeld ließ sich dann leicht der Markierungsindex berechnen. Es wurden dabei pro Tier etwa 8 000 bis 20 000 und mehr Parenchymzellen und etwa 3 000 bis 6 000 und mehr Mesenchymzellen ausgewertet.

2. 6. 2. PAS vor- und Haematoxylin-Methanilgelb nachgefärbte Autoradiogramme

Anhand dieser Schnitte führten wir eine typenmäßige Differenzierung der Parenchymzellen des Hypophysenvorderlappens in Acidophile, Gonadotrope, Thyreotrope und Chromophobe durch.[+]) Dabei ist das Cytoplasma der Chromophoben chromophob, das der Acidophilen gelb, das der Gonadotropen und Thyreotropen violettrot gefärbt, wobei die Gonadotropen einen abgerundeten Cytoplasmaleib haben und oft breit den Kapillaren anliegen, und die Thyreotropen einen ausgesprochen zipfligen Cytoplasmaleib aufweisen. In ähnlicher Weise wie bei 2. 6. 1. wurden auch hier 200 Blickfelder und mehr ausgewertet. Es ließ sich daraus folgendes errechnen:

a) Prozentualer Anteil der oben genannten verschiedenen DNS synthetisierenden oder postmitotisch markierten Parenchymzelltypen an der Zahl aller markierten Parenchymzellen, wobei die Zahl aller markierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde.

b) Prozentualer Anteil der verschiedenen Parenchymzelltypen am Gesamtkollektiv aller ausgezählten auch nicht markierten Parenchymzellen, wobei die Zahl aller markierten plus unmarkierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde.

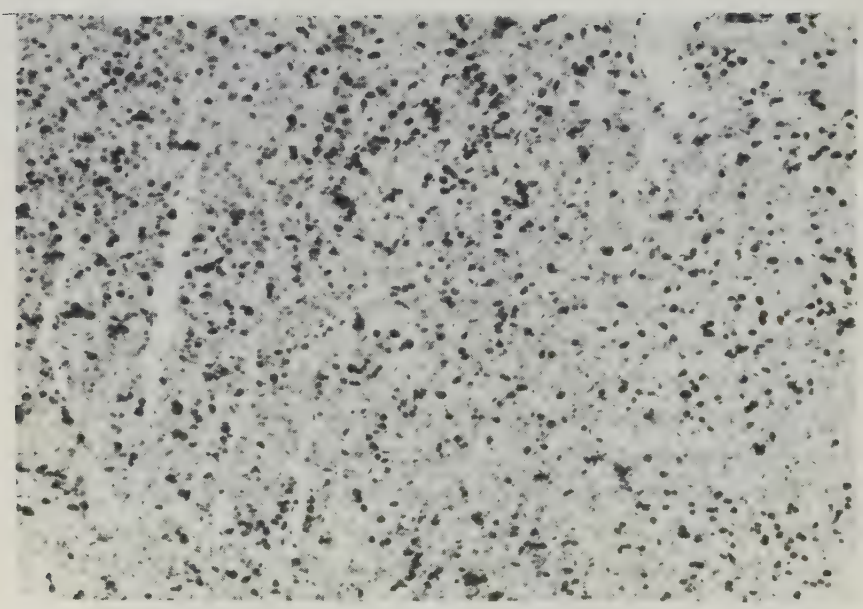
c) Markierungsindices der verschiedenen Parenchymzelltypen, d. h. der prozentuale Anteil aller DNS synthetisierenden oder postmitotisch markierten Kerne an der bestimmten Gesamtzellzahl des jeweiligen Parenchymzelltypes.

+) Herrn Dr. F. Städtler, Pathologisches Institut der Universität Homburg, Saar, danke ich vielmals für seinen Rat zur Durchführung der Zelldifferenzierung.

III ERGEBNISSE UND ERÖRTERUNGEN

3. 1. Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei Kontrollen

Der Prozentsatz markierter Parenchymkerne des Hypophysenvorderlappens von Kontrolltieren, und zwar von juvenilen (3 - 4 Wochen alten), eben ausgewachsenen (2 - 4 Monate alten) und senilen (über 2 1/2 Jahre alten) Ratten, steigt nach Figur 1 (s. Seite 18) linear mit der Zeit an. Dabei steigt die Kurve der juvenilen steiler an als die der eben ausgewachsenen und diese wieder steiler als die der senilen Ratten (vergl. Fig. 1 a, Seite 18; Tabelle 1, siehe Anhang). Z. B. beträgt der Markierungsindex nach 10 Tagen bei juvenilen Ratten im Mittel 39, 15 % (vergl. Abb. 1 und 2, Seite 14 - 17), bei eben ausgewachsenen 7, 6 % und bei senilen 2, 63 %. Der lineare Anstieg besagt, daß pro Zeiteinheit etwa gleich viele Zellen in die DNS-Synthese eintreten. Bei juvenilen Ratten lassen sich dabei häufiger "Proliferationsknospen" überwiegend chromophober Zellen nachweisen (vergl. Abb. 2 b, Seite 16).



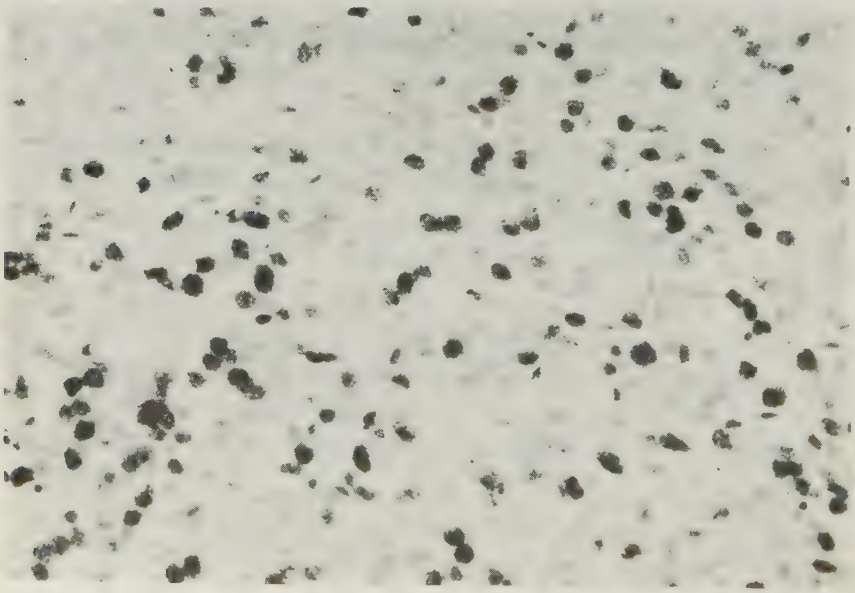
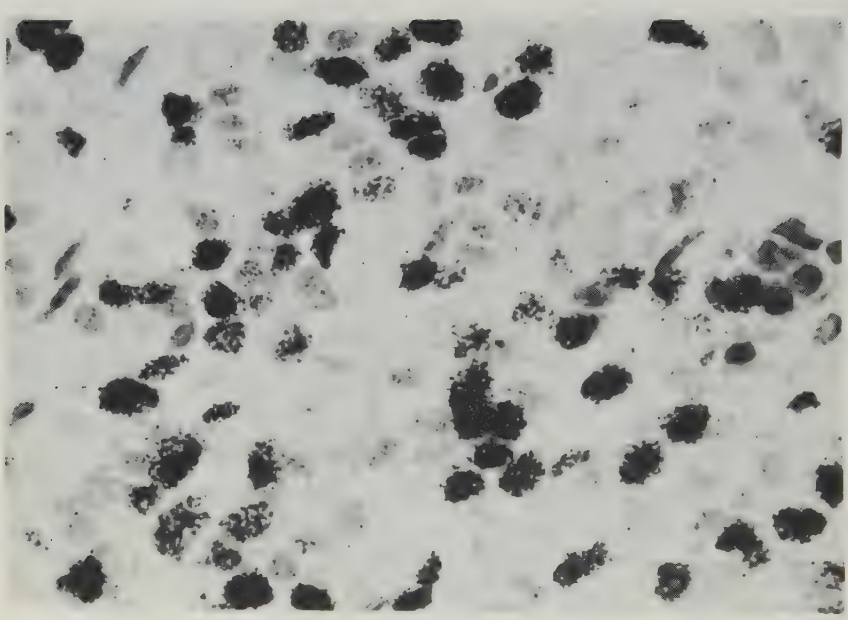


Abb. 1

a) Seite 14 oben

b) Seite 14 unten

Nachgefärbte Autoradiogramme (HE), Hypophysenvorderlappen, 3 - 4 Wochen alte Kontrollratte, 10 Tage ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion. Expositionszeit a) 100 d, b) 80 d; multiple markierte Parenchym- und Mesenchymzellkerne in a) und b); Vergrößerung in a) ca. 150-, in b) ca. 370fach.



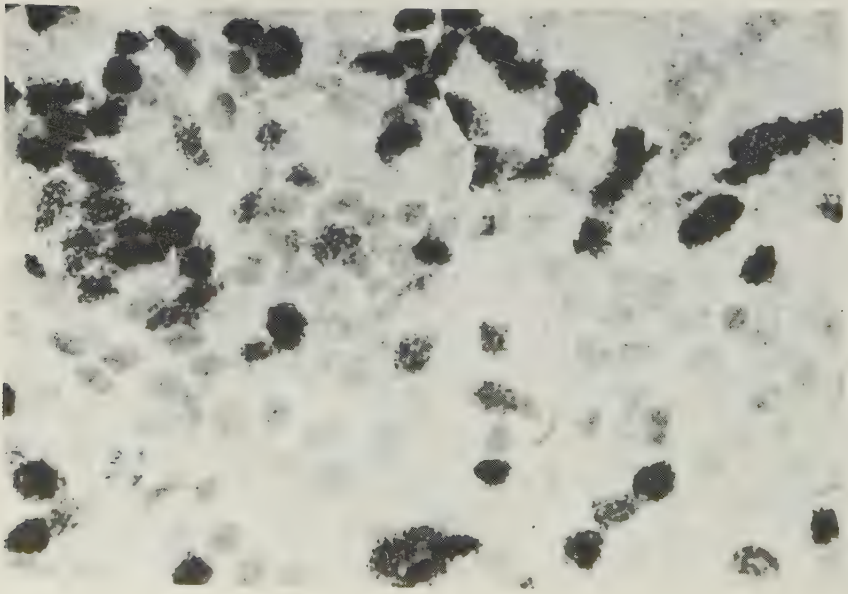


Abb. 2

a) Seite 16 oben

b) Seite 16 unten

Nachgefärbte Autoradiogramme (HE), Hypophysenvorderlappen, 3 - 4 Wochen alte Kontrollratte, 10 Tage ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion. Expositionszeit a) und b) 100 d; multiple markierte Parenchym- und Mesenchymzellkerne in a) und b); in b) in oberer Bildhälfte "Proliferationsknospe" überwiegend chromophober Parenchymzellen; Vergrößerung in a) und b) ca. 770fach.

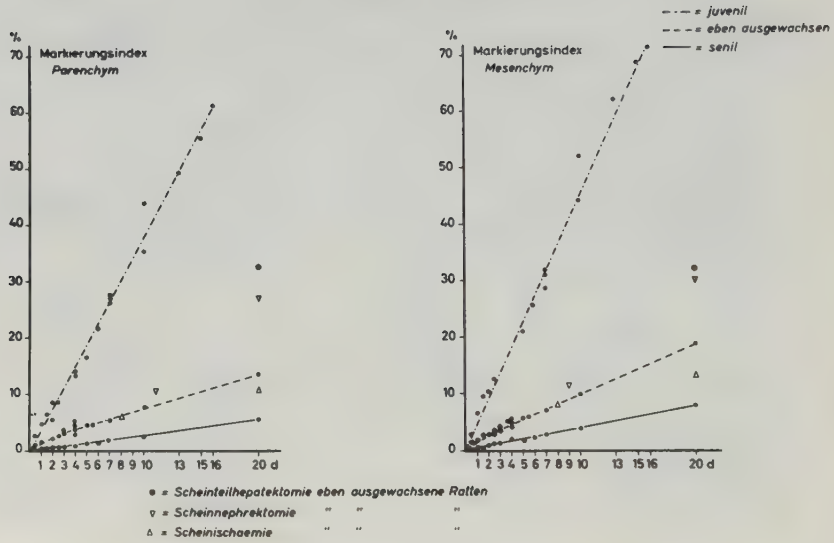


Fig. 1 a

Fig. 1 b

Figur 1

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchymzellen (Fig. 1 a) und der Mesenchymzellen (Fig. 1 b) des Hypophysenvorderlappens bei juvenilen, eben ausgewachsenen und senilen Kontrolltieren in Abhängigkeit von der Zeit (d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen) (vergl. Tabelle 1 im Anhang)

3. 2. Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei Versuchstieren

Nach 2/3-Teilhepatektomie (Fig. 2 a, Seite 20; Tabelle 2 im Anhang) liegen demgegenüber ganz andere Verhältnisse vor. Wiederum ist der Prozentsatz markierter Parenchymkerne der Hypophyse als Funktion der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit aufgetragen und zwar für juvenile, für eben ausgewachsene und für senile Ratten. Zunächst zeigen die Kurven einen etwa linearen Anstieg; nach 3 - 4 Tagen nach der Operation bildet sich jedoch ein Plateau. Demnach kommt es trotz kontinuierlicher Zufuhr von ^{3}H-Thymidin zu keiner nennenswerten Zunahme der prozentualen Markierung. Das heißt aber, daß sich an 2/3-teilhepatektomierten Ratten im Hypophysenvorderlappen eine beträchtliche Drosselung bzw. ein kompletter Stop der normalen DNS-Synthese bzw. der normalen Zellproliferation und zwar bei senilen, eben ausgewachsenen und juvenilen Tieren einstellt. Zu erwähnen bleibt noch, daß das Plateau bei juvenilen Tieren (ca. 15 - 16 %) höher als bei eben ausgewachsenen (ca. 3, 6 %), und bei diesen wieder höher als bei senilen (ca. 1, 8 %) liegt (vergl. Abb. 2, Seite 16; Tabelle 2, s. Anhang).

Ein auffallend ähnlicher Effekt zeigt sich nach einstündiger temporärer unilateraler Nierenischaemie bzw. unilateraler Nephrektomie (Fig. 3 a, Seite 21; Tab. 3, s. Anhang). Wiederum stellt sich nach initialem, etwa linearem Anstieg der Kurven ein Plateau zwischen dem 3. und 4. postoperativen Tag ein. Dieses bleibt bei nephrektomierten Tieren bis zu 20 Tagen nach der Operation erhalten, während nach temporärer unilateraler Nierenischaemie am 9. und 10. postoperativen Tag ein steiler Wiederanstieg einsetzt.

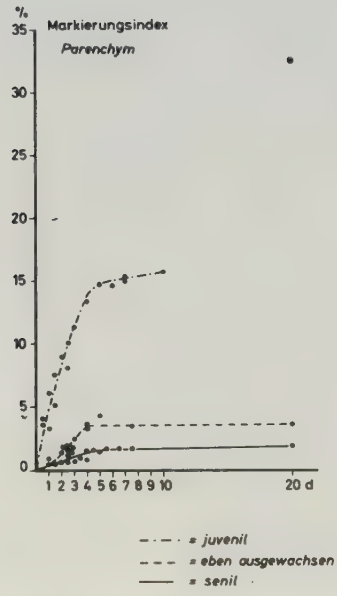


Fig. 2 a

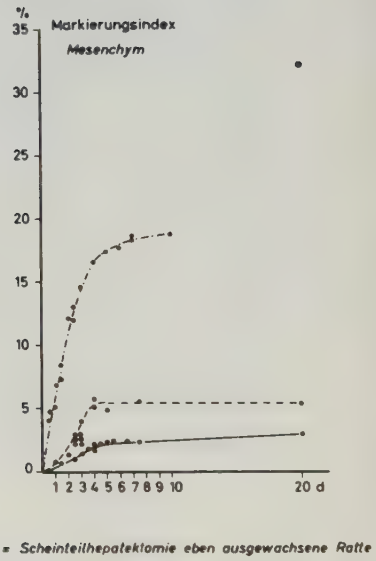


Fig. 2 b

Figur 2

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchymzellen (Fig. 2 a) und der Mesenchymzellen (Fig. 2 b) des Hypophysenvorderlappens bei juvenilen, eben ausgewachsenen und senilen 2/3-teilhepatektomierten Ratten in Abhängigkeit von der Zeit (d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen).

(vergl. Tabelle 2 im Anhang)

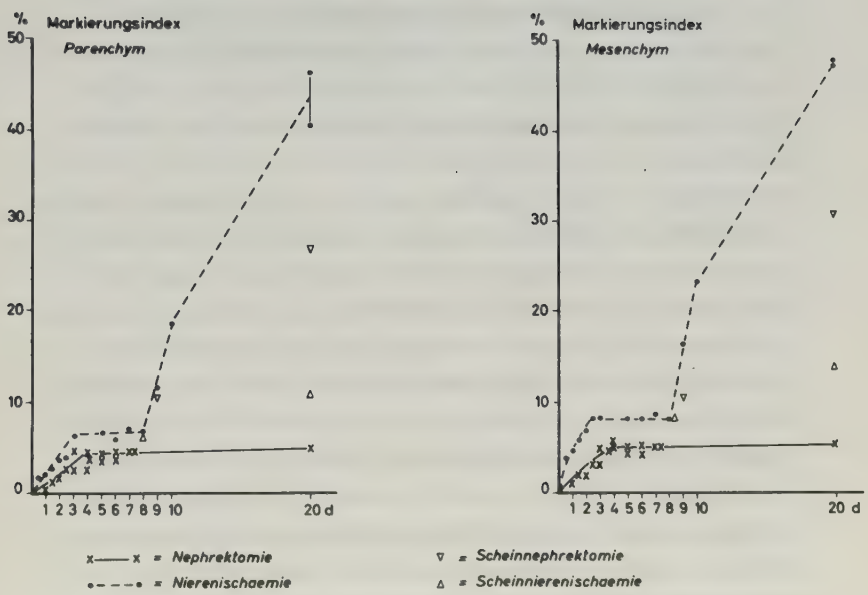


Fig. 3 a

Fig. 3 b

Figur 3

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchymzellen (Fig. 3 a) und der Mesenchymzellen (Fig. 3 b) des Hypophysenvorderlappens nach temporärer unilateraler Niereischaemie bzw. unilateraler Nephrektomie eben ausgewachsener Ratten in Abhängigkeit von der Zeit (d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen).

(vergl. Tabelle 3 im Anhang)

Aus den eben geschilderten Fakten muß noch auf folgende Punkte näher hingewiesen werden:

1.) Die Einmündung in das Plateau, also in die Drosselung bzw. den Stop der hypophysären Zellproliferation erfolgt bei allen operierten Ratten, wenn auch die Art des operativen Vorgehens ganz unterschiedlich ist, etwa zum gleichen Zeitpunkt, nämlich 3 - 4 Tage nach dem Auslösen des Regenerationsreizes in Leber und Niere.
2.) Bei der 2/3-Teilhepatektomie und bei der unilateralen Nephrektomie läßt sich diese Drosselung bzw. dieser Stop bis zum 20. Tag (20 d) verfolgen. Das läßt sich evtl. damit erklären, daß die kompensatorische Regeneration in Niere und Leber bis zum Abklingen längere Zeit - etwa 3 - 4 Wochen - benötigt (HIGGINS und ANDERSON 1931; ABERCROMBIE und HARKNESS 1951; BARNUM, JARDETZKY und HALBERG 1957; HÜBNER 1964, 1967; STÖCKER, NEUMANN-REDLIN und HEINE 1968, NEUMANN-REDLIN 1969).
3.) Die am 9. und 10. Tag nach temporärer unilateraler Nierenischaemie wieder einsetzende Zellneubildung im Hypophysenvorderlappen ist überschießend. Denn die Markierung liegt im Versuchstier nach 10 Tagen Dauerinfusionszeit mit 18 % wesentlich höher als im entsprechenden Kontrollkollektiv, wo man zum gleichen Zeitpunkt nur etwa 8 % registriert. Die Erklärung für diesen Effekt könnte sein, daß die reparative Nierenregeneration nach Ischaemie viel kürzer ist und im wesentlichen schon nach 2, 5 Tagen abgeklungen und nach etwa 10 Tagen so gut wie abgeschlossen ist (OTTO 1970).

Weiterhin sei betont, daß in Referenzorganen - Trachealepithel und exokrines Pankreas derselben Tiere - ein derartiger Effekt nicht registrierbar war, sondern sich ein kontinuierlicher Anstieg ergab, ähnlich wie bei den Kontrollen (STÖCKER, HEINE und LÖFFLER 1969, WENZEL 1970). Somit können die gemessenen

Effekte nicht mit der Technik der Dauerinfusion in Zusammenhang gebracht werden.

3. 3. Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation bei scheinoperierten Ratten

Eine weitere Sicherung unserer experimentellen hypophysären Daten stellen die Ergebnisse der Scheinoperationen (Tab. 4, s. Anhang; Fig. 1 - 3) dar. Hierbei konnten wir im Hypophysenvorderlappen weder den überschießenden Regenerationseffekt nach temporärer unilateraler Nierenischaemie noch den depressorischen Effekt nach 2/3-Teilhepatektomie und unilateraler Nephrektomie nachweisen. Bei der Scheinnierenischaemie und der Scheinnephrektomie lag der Markierungsindex in der Größenordnung der Kontrollen (Fig. 1, Seite 18) und somit nach Scheinnierenischaemie weitaus niedriger und nach Scheinnephrektomie deutlich höher als nach den echten Operationen (Fig. 3, Seite 21). Lediglich nach der Schein-Teilhepatektomie erzielten wir einen auffällig hohen Markierungsindex, der nicht nur über dem der echten Operationen (Fig. 2, Seite 20) sondern auch über dem der Kontrollen (Fig. 1, Seite 18) lag. Dieser Vorgang könnte darauf zurückgehen, daß bei Schein-Teilhepatektomie im Unterschied zu Scheinnephrektomie und Scheinnierenischaemie ein großer peritonealer Reiz ausgeübt wird, welcher evtl. als Folge einer Streßsituation einen Reiz auf die hypophysäre Zellproliferation ausübt. Wenn das zutrifft, müßte bei echter 2/3-Teilhepatektomie ein solcher stimulierender Faktor niedergeschlagen bzw. gebremst werden, und zwar durch den infolge der Operation erzwungenen Stop der hypophysären Zellproliferation.

3. 4. Zur parenchymatösen hypophysären Zellproliferation in differenzierten Zellkollektiven

Sehr wichtig ist die Frage, wie sich bei den registrierten depressorischen oder forcierenden hypophysären Zellproliferationen die verschiedenen Zelltypen des Hypophysenvorderlappens (große und kleine Chromophobe, Acidophile, Gonadotrope und Thyreotrope)verhalten. Nach Kastration bzw. Thyreoidektomie an Ratten (TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH, 1968 sowie STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE 1970) wurde nämlich festgestellt, daß die hieraus resultierenden proliferationssteigernden Effekte im Hypophysenvorderlappen speziell auch die betreffenden tropen Elemente (gonadotrope bzw. thyreotrope Zellen) ansprachen. Setzt man die Zahl aller markierten Zellen = 100 und berechnet man die prozentuale Beteiligung markierter Zelltypen an allen DNS-synthetisierenden Elementen, nimmt nach den Ergebnissen der genannten Autoren die Beteiligung gonadotroper bzw. thyreotroper Zellen zu ungunsten einer Beteiligung der Chromophoben zu.

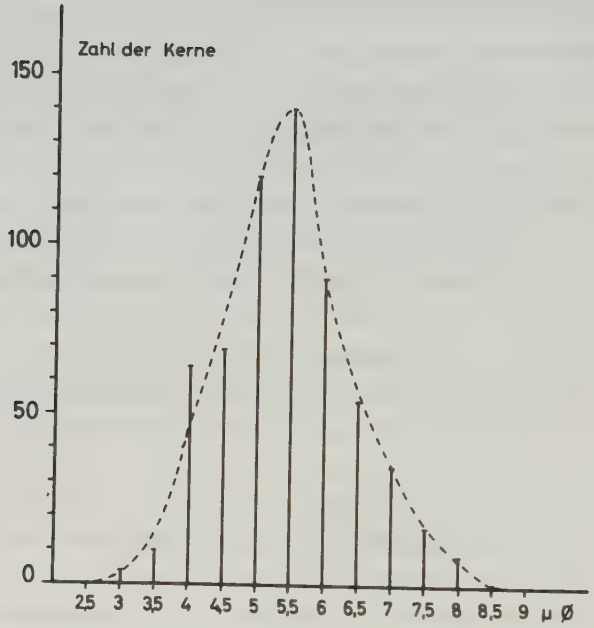
Wir haben nach gleichem Verfahren eine Auswertung vorgenommen. Allerdings haben wir große und kleine Chromophobe nicht gesondert differenziert. Denn bei einer Auftragung der gemessenen Kerndurchmesser in einer Häufigkeitsverteilung (Fig. 4 , Seite 26) ließen sich zwei Kernkollektive nicht sicher und eindeutig separieren. Jedoch zeigten nachträglich vorgenommene Berechnungen, wobei die Häufigkeit von Kernflächen zugrunde gelegt wurde, daß sich durchaus mehrere (5) Kernkollektive mit größeren und kleineren Exemplaren abgrenzen ließen (Fig. 5, Seite 27). [+])

[+]) Herrn Doz. Dr. W. Ross danke ich sehr herzlich für die Durchführung der Berechnungen.

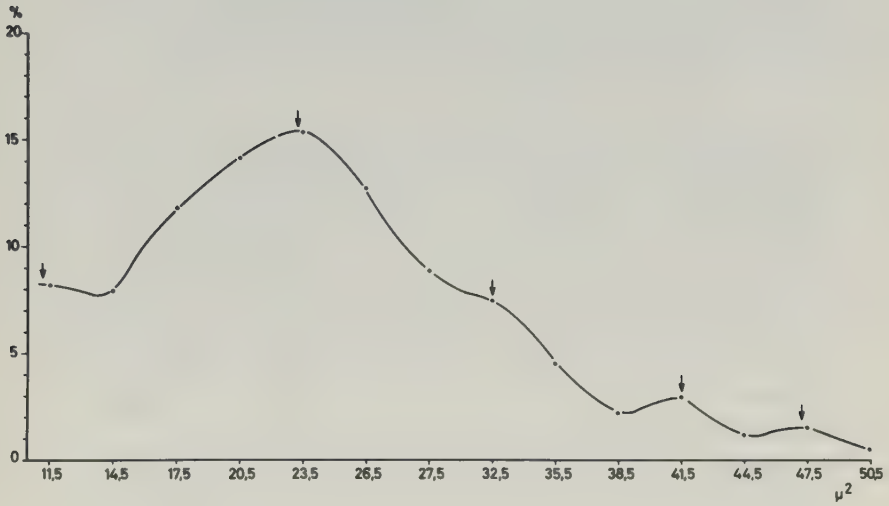
In der Figur 5 sind die Kernflächen (zu Dreiergruppen zusammengefaßt) nach Berechnung eines gleitenden Durchschnittes in Häufigkeitsprozenten aufgetragen. Aus der Figur ist ersichtlich, daß aus dem "Sammeltopf sogenannter chromophober Elemente" eine Abgrenzung größerer und kleinerer Kernkollektive (5; ↓ in Fig. 5, Seite 27) durchaus berechtigt ist. Allerdings sind offensichtlich die Flächenunterschiede nicht so groß, daß sie bei einer Darstellung der Häufigkeitsverteilung ausgehend von den Kerndurchmessern (vergl. Fig. 4, Seite 26) nicht in dem Maße zum Ausdruck kommen, sondern sich hier nur angedeutet abzeichnen. Die dabei von uns erhobenen Werte stimmen karyometrisch sehr gut mit solchen von STÄDTLER, ROSS und STÖCKER (in Vorbereitung) an Chromophoben der Rattenhypophyse vorgenommenen Messungen überein.

Bei unserer Art der Auswertung zeigte sich, daß sich die Chromophoben im Mittel mit 84 % (zwischen 80, 6 % und 85, 9 %), die Acidophilen durchschnittlich mit 11, 8 % (zwischen 10, 4 % und 13, 9 %), die Gonadotropen im Mittel mit 1, 6 % (zwischen 0, 83 % und 2, 92 %), und die Thyreotropen durchschnittlich mit 2, 5 % (zwischen 1, 06 % und 4, 9 %) bei Kontroll- und Versuchstieren an der Proliferation beteiligen. Die Werte entsprechen weitgehend den von DHOM, STÖCKER (1964, 1965), den von TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH (1968) und STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE (1970) erhobenen Befunden. Der prozentuale Anteil der verschiedenen Parenchymzelltypen am Gesamtkollektiv aller Parenchymzellen verhält sich durchschnittlich wie folgt: Chromophobe 67 % (zwischen 61, 9 % und 71, 8 %), Acidophile 31 % (zwischen 26, 8 % und 35, 1 %), Gonadotrope 1, 07 % (zwischen 0, 65 % und 1, 36 %), Thyreotrope 1, 34 % (zwischen 0, 64 % und 1, 93 %).

Folgendes ist bemerkenswert: Die Chromophoben beteiligen sich im Mittel mit 84 %, die Acidophilen mit 11, 8 % an der Proliferation, der Anteil aller Chromophoben am Gesamtkollektiv aller Parenchymzellen



Figur 4 Chromophobe, Hypophysenvorderlappen, 2 Monate alte Ratte, Kontrolltier.
Häufigkeitsverteilung von Kerndurchmessern.



Figur 5 Chromophobe, Hypophysenvorderlappen, 2 Monate alte Ratte, Kontrolltier.
Häufigkeitsverteilung von Kernflächen in Prozent nach Berechnung eines gleitenden Durchschnittes.
Fünf Kollektive abgrenzbar (↓).

beträgt aber im Mittel nur 67 %, der Anteil aller Acidophilen immerhin 31 %. Das heißt, daß sich die Chromophoben sowohl absolut als auch relativ stärker an der Proliferation beteiligen als die Acidophilen. Dies geht auch aus den Werten für die Markierungsindices der verschiedenen Parenchymzelltypen hervor (s. Tab. 5, im Anhang).

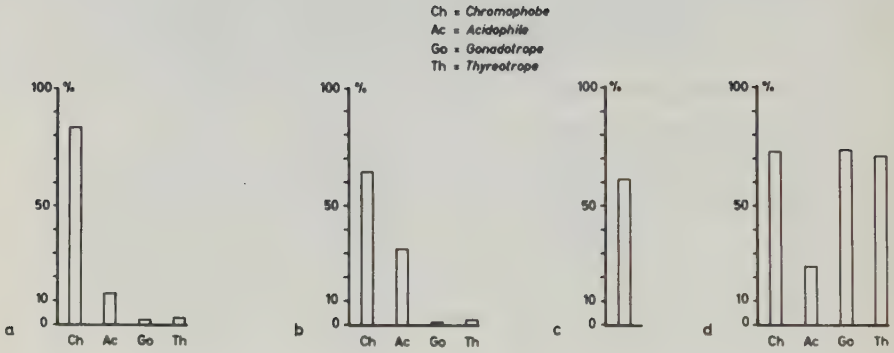
Als Beispiel sei ein juveniles Kontrolltier mit einer radioaktiven Versuchszeit von 16 Tagen und einem sehr hohen Prozentsatz markierter Kerne angeführt: Die Chromophoben beteiligen sich hier mit 83 %, die Acidophilen mit 13 %, die Gonadotropen mit 1,5 % und die Thyreotropen mit 2,2 % an der Proliferation bezogen auf alle markierten Zellen (Fig. 6 a, Seite 30). Wie aus der Figur 6 b hervorgeht, beläuft sich der zahlenmäßige Anteil von Chromophoben bezogen auf alle vorhandenen hypophysären Zellen auf 65 %. Die Werte für die Acidophilen, Gonadotropen und Thyreotropen erreichen rund 32 %, 1,2 % und 2,0 %. Daraus geht also hervor, wenn man die Ergebnisse der Figuren 6 a und 6 b vergleicht, daß die Beteiligung der Zellkollektive an der Proliferation einerseits und andererseits ihre Beteiligung an der Gesamtzellzahl der Hypophyse abgesehen von den Acidophilen bei Chromophoben, Gonadotropen und Thyreotropen etwa gleich ist.

In Figur 6 c ist der Markierungsindex bei einer en bloc Auswertung aller hypophysären Vorderlappenzellen aufgeführt, der 61 % beträgt. Demgegenüber zeigt die Figur 6 d die Resultate der differenzierten Zellauswertung. Hier sind die Markierungsindices für Chromophobe, Acidophile, Gonadotrope und Thyreotrope, gemessen jeweils innerhalb des entsprechenden Kollektivs, niedergelegt. Dabei erkennt man, daß der Gesamt-^{3}H-Index und die Indices der differenzierten Zellauswertung bei Chromophoben, Gonadotropen und Thyreotropen etwa gleich sind. Eine Ausnahme bilden neuerlich die Acidophilen.

Aus diesen Befunden ist folgendes abzuleiten: Zwar sind die Chromophoben als zahlenmäßig stärkste Zellpopulation im Hypophysenvorderlappen auch auffällig stark an der Zellproliferation beteiligt. Sie fallen also als reichlich markierte Kerne im Autoradiogramm sofort auf. Jedoch ist auch in den zahlenmäßig schwächeren Zellproliferationen wie Gonadotropen und Thyreotropen ein Proliferationsumfang von gleicher Größe nachweisbar. Nur treten im Autoradiogramm markierte differenzierte trope Zellen weniger häufig in Erscheinung, sowie auch ihr zahlenmäßiges Auftreten gegenüber den Chromophoben viel geringer ist. Eine Ausnahme bilden die Acidophilen. Diese Zellen sind verhältnismäßig zahlreich vorhanden, dabei aber in schwächerem Umfang prozentanteilmäßig an der Proliferation beteiligt.

Von besonderem Interesse ist, daß sich diese Relationen des prozentualen Partizipierens chromophober und differenzierter hypophysärer Zellelemente von juvenilen Tieren über die eben ausgewachsenen bis zu senilen Ratten nicht ändern, wie dem Zahlenmaterial der Tabelle 5 (im Anhang) zu entnehmen ist. Dieser an sich überraschende Befund läßt zwei Deutungsmöglichkeiten zu: Entweder trifft die Vorstellung nicht zu, daß die chromophoben Zellen als undifferenzierte Stammzellen eine Rolle spielen (PURVES und GRIESBACH 1955, 1956; DHOM und STÖCKER 1964). In diesem Fall müßte man annehmen, daß in allen Zellkompartements von Hypophysenvorderlappenzellen die Zellneubildung und der -verlust in gleicher Weise entsprechend dem Anteil der jeweiligen Kollektive an der Gesamtzellzahl abläuft.

Eine zweite Vorstellung, die aus diesen eben erwähnten Resultaten gezogen werden kann und den Chromophoben weiterhin die Bedeutung als Stammzellen zukommen ließe, wäre folgende: Die Chromophoben wirken als Stammzellen, es erfolgt eine Zelldifferenzierung,



Figur 6 Kontrolltier, juvenil, 16 Tage radioaktive Versuchszeit (vergl. Tabelle 5, im Anhang)

a) Prozentualer Anteil der verschiedenen DNS-synthetisierenden oder postmitotisch markierten Parenchymzelltypen an der Zahl aller markierten Parenchymzellen, wobei die Zahl aller markierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde.

b) Prozentualer Anteil der verschiedenen Parenchymzelltypen am Gesamtkollektiv aller ausgezählten auch nichtmarkierten Parenchymzellen, wobei die Zahl aller markierten plus unmarkierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde.

c) Markierungsindex des gesamten Parenchymzellkollektives (bei HE-Färbung) = en bloc Auswertung.

d) Markierungsindex der verschiedenen Parenchymzelltypen, d. h. der prozentuale Anteil aller DNS-synthetisierenden

oder postmitotisch markierten Kerne an der bestimmten Gesamtzellzahl des jeweiligen Parenchymzelltypes = differenzierte Zellauswertung.

wobei dann auch in den jeweiligen differenzierten Zelltypen wiederum eine eigene DNS-Neubildung stattfinden kann. Dabei müßte dann aber die Generationszeit in den differenzierten Elementen kürzer sein. Schließlich müßte ein fließendes Gleichgewicht zwischen einem Zellverlust in den differenzierten Hypophysenvorderlappenzellen und der Zellnachbildung in den Chromophoben erfolgen.

Welche der beiden Hypothesen zutreffend ist, kann aufgrund der bislang vorliegenden Untersuchungsergebnisse noch nicht entschieden und belegt werden. Zum Studium solcher Fragen wären sicherlich proliferationskinetische Untersuchungen an der Hypophyse nach speziellen, durch endokrinologische Eingriffe ausgelösten Proliferationsreizen erforderlich.

Nämlich nach Kastration von Ratten haben DHOM und STÖCKER 1964 a) und b), TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH 1968, STÄDTLER, STÖCKER und TIETZE 1969, STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE 1970 einen Anstieg der Proliferation in den gonadotropen und nach Thyreoidektomie einen solchen in den thyreotropen Zellen der Rattenhypophyse bei entsprechender Minderung der Zellneubildung in den chromophoben festgestellt.

Demgegenüber haben sich in unseren Experimenten weder bei einem verstärkten Anstieg der hypophysären Zellproliferation noch bei einer Drosselung oder einem Stop der Zellneubildung nach unilateraler, temporärer Nierenischaemie, unilateraler Nephrektomie und 2/3-Teilhepatektomie und schließlich auch nicht bei dem verstärkten Wiederanstieg der hypophysären Zellneubildung nach unilateraler, temporärer Nierenischaemie irgendwelche Änderungen in der Beteiligung

der einzelnen Hypophysenzellen an der DNS-Synthese verfolgen lassen. Das relative Verteilungsmuster der prozentualen Markierung innerhalb der einzelnen Zellkollektive wich nicht von den Kontrollen ab (Zahlenwerte s. Tabelle 5). Die Proliferation wird also weder bei der Drosselung der Zellneubildung, noch beim überschießenden Wiedereinsetzen (unilaterale, temporäre Nierenischaemie) in ein anderes Kollektiv verlagert.

Das beinhaltet dreierlei:
1.) Die depressorischen und akzelleratorischen hypophysären Proliferationseffekte betreffen alle an der Zellneubildung beteiligten Zelltypen in völlig gleicher Weise.
2.) Auch im Verlauf des lang anhaltenden Stops der hypophysären Zellproliferation tritt keine Typendifferenzierung granulierter Zellen aus dem Proliferationsblastem der Chromophoben ein.
3.) Selbst bei der stark überschießenden hypophysären Zellneubildung ab 8. Tag nach temporärer unilateraler Nierenischaemie beteiligen sich wiederum alle Zellkompartements - und nicht etwa die Chromophoben in betont stärkerem Umfang - an der Zellneubildung.

Daraus ist zu schließen, daß durch unsere, die Niere und Leber betreffenden Regenerationsreize und die daraus resultierende depressorische bzw. akzelleratorische Reaktion auf die hypophysäre Zellneubildung die typenmäßige Beteiligung der Zellen an der Proliferation in keiner Weise gegenüber den Kontrollen beeinträchtigt wird. Die Proliferation wird also vom Standpunkt des Umfanges der daran beteiligten Zellen auf ein höheres oder niederes Niveau geschaltet, vom Standpunkt des Zelltypes aus gleichsinnig beansprucht aber nicht verändert.

Demzufolge liegen also bei unseren Experimenten andere Verhältnisse bezüglich der hypophysären Zellneubildung als bei gezielt

die Hirnanhangsdrüse treffenden Eingriffen wie Kastration und Thyreoidektomie vor (DHOM und STÖCKER 1964 a, b; TIETZE, STÖCKER, DHOM und ROTH 1968; STÄDTLER, STÖCKER und TIETZE 1969; STÄDTLER, STÖCKER, DHOM und TIETZE 1970; vergl. Seite 31).

3. 5. Zur mesenchymalen hypophysären Zellproliferation bei Kontrollen und Versuchstieren

Bemerkenswert ist, daß alle an den parenchymatösen Zellen beobachteten Effekte in gleicher Weise auch für die m e s e n c h y m a l e n Zellen (Gefäßbindegewebszellen) zutreffen. Das gilt sowohl für die Depressionen nach allen Operationen als auch für die wiedereinsetzende Acceleration nach unilateraler temporärer Nierenischaemie. Insgesamt liegt die mesenchymale Proliferation (Fig. 1 a, b, 2 a, b, 3 a, b), was den Umfang anbelangt, unwesentlich höher als die parenchymatöse. Der zeitliche Eintritt des Stops oder Wiederanstiegs der Zellneubildung ist aber mit den parenchymatösen Elementen synchronisiert. Selbst das für die Scheinoperation an parenchymatösen Elementen bereits näher erörterte Phänomen (Seite 23) trifft auch in sehr ähnlicher Weise für die mesenchymalen Zellen zu.

Diese gesamten Befunde sprechen erneut für eine sehr wahrscheinlich das inkretorische System besonders betreffende enge Kopplung zwischen parenchymatöser und mesenchymaler Zellneubildung, wie das schon von STÖCKER, KABUS und DHOM 1966 an der Nebennierenrinde der Ratte unter proliferationsfördernden und -hemmenden Bedingungen beobachtet worden ist.

3. 6. Zur Deutung der autoradiographischen Befunde

Zur Zeit ist die kausale Deutung dieser Befunde noch recht problematisch. In der Literatur waren uns keinerlei Hinweise zugänglich. Ohne weitere experimentelle Daten kann sie u. E. zunächst nur in Form einer Hypothese erfolgen (STÖCKER, HEINE und LÖFFLER 1969). Es ist durchaus denkbar, daß die funktionelle zelluläre RNS- und Eiweiß-Synthese im Hypophysenvorderlappen durch die Regenerationsprozesse in Leber und Niere angefacht werden. Dann wäre dies als eine zeitlich gedrosselte oder gestoppte Zellproliferation mit dem Gegensatz von Funktions- und Proliferationsstoffwechsel im Sinne der Definition von ALTMANN (1966) zu erklären. Entsprechende Befunde sind schon am pilocarpingereizten exokrinen Pankreas erhoben worden, wo eine maximale RNS- und Eiweiß-Synthese einer Reduktion der Zellproliferation parallel geht (STÖCKER und WITSCHEL 1967).

Auch das überschießende Wiedereinsetzen der hypophysären Zellneubildung 9 und 10 Tage nach temporärer Nierenischaemie ist auf diese Weise einer Deutung zugänglich. Die reparative Nierenregeneration ist nämlich zu diesem Zeitpunkt schon abgeschlossen (HÜBNER 1967; OTTO 1970), während die kompensatorische Regeneration nach Teilhepatektomie (HIGGINS und ANDERSON 1931; ABERCROMBIE und HARKNESS 1951; BARNUM, JARDETZKY und HALBERG 1957) bzw. Nephrektomie (HÜBNER 1964, 1967; STÖCKER, NEUMANN-REDLIN und HEINE 1968) erst um 3 Wochen - also gegen Ende unserer Dauerinfusionszeit - ausklingt. Weitere autoradiographische Untersuchungen müssen klären, wieweit diese Arbeitshypothese zutreffend ist.

IV ZUSAMMENFASSUNG

Autoradiographische Untersuchungen nach kontinuierlicher ^{3}H-Thymidin Dauerinfusion (bis zu 20 d) führten in der Adenohypophyse von männlichen Sprague-Dawley-Ratten zu folgenden Ergebnissen:

1.) Bei Kontrollen steigt der prozentuale Markierungsindex parenchymatöser Hypophysenvorderlappenzellen etwa linear mit der ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusionszeit an, und zwar bei juvenilen Tieren (3 - 4 Wochen alt) weitaus steiler als bei eben ausgewachsenen Ratten (2 - 4 Monate alt), und bei diesen wieder steiler als bei senilen Ratten (über 2 1/2 Jahre alt). Daraus ist zu schließen, daß die Zahl der pro Zeiteinheit in die DNS-Synthese eintretenden Kerne innerhalb der drei Kontrollkollektive annähernd konstant ist und dabei kontinuierlich von der juvenilen zur senilen Ratte abnimmt.

2.) Bei Versuchstieren verhält sich die hypophysäre Zellproliferation während der Leber-(2/3-Teilhepatektomie) oder Nierenregeneration (1-stündige unilaterale temporäre Nierenischaemie bzw. unilaterale Nephrektomie), wobei die ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion (bis 1,5 mCi/24 h) unmittelbar postoperativ begonnen wurde, anders. Wie bei den entsprechenden Kontrollen steigen die prozentualen Markierungsindices zwar zunächst bis zum 3. bzw. 4. postoperativen Tag an. Dann aber münden die Kurven ausnahmslos in ein Plateau. Das besagt, daß trotz weiteren kontinuierlichen ^{3}H-Thymidinangebots keine neuen Kerne in die DNS-Synthese eintreten, was als starke Bremsung bzw. als kompletter Stop der hypophysären Zellerneuerung zu deuten ist. Dieser Effekt tritt nach den durchaus unterschiedlichen Regenerationsreizen in annähernd gleicher Form auf. Nach temporärer, unilateraler Nierenischaemie allerdings wird ein Wiedereinsetzen der Proliferation am 9. und 10. postoperativen Tag beobachtet. Dabei erfolgt

dieser Prozeß überschießend, denn es werden nun wesentlich höhere Werte als bei einschlägigen Kontrollen registriert. Nach 2/3-Teilhepatektomie nimmt die Höhe des Drosselungsniveaus der hypophysären Zellproliferation von juvenilen über eben ausgewachsene zu senilen Ratten ab. Durch einschlägige Scheinoperationen konnten diese Effekte nicht ausgelöst werden.

3.) Völlig identische Effekte, was altersabhängige Zellneubildung bei Kontrollen, als auch Anstieg, Drosselung und Wiederanstieg der hypophysären Zellproliferation bei Versuchstieren anbelangt, wurden auch in den mesenchymalen Zellen des Hypophysenvorderlappens registriert. Nur ist insgesamt gesehen der Markierungsindex in den mesenchymalen Zellen, in die Gefäß- und Bindegewebszellen einbezogen sind, höher als im Parenchymzellkollektiv. Diese Befunde weisen auf eine enge Assoziation der DNS-Synthese in parenchymatösen und mesenchymalen Zellen inkretorischer Organe hin.

4.) Eine Zelltypendifferenzierung in Chromophobe (große und kleine), Acidophile, Gonadotrope und Thyreotrope ließ am PAS vor- und Haematoxylin-Methanilgelb nachgefärbtem Autoradiogramm folgendes erkennen: Die Chromophoben treten in dem Umfang verstärkt proliferatorisch ins Spiel, in dem sie als zahlenmäßig führendes Kollektiv an der Gesamtzellzahl des Hypophysenvorderlappens beteiligt sind. Für die demgegenüber zahlenmäßig weitaus weniger häufig vertretenen Gonadotropen und Thyreotropen trifft dies jedoch in gleichem Maße zu. Der lokale Markierungsindex innerhalb der erwähnten Zellkollektive (Chromophobe, Gonadotrope, Thyreotrope) ist identisch. Eine Ausnahme bilden die Acidophilen. Sie sind demgegenüber etwas stärker an der Gesamtzellzahl parenchymatöser Hypophysenvorderlappenelemente vertreten und partizipieren an der Zellproliferation in geringerem Umfang. Diese Verteilung der Proliferation in den verschiedenen Kernkollektiven bleibt von juvenilen über die eben ausgewachsenen bis zu senilen Kontrolltieren völlig gleich.

Auch bei den Versuchstieren bleibt diese Relation sowohl bei geminderter als auch forcierter hypophysärer Zellneubildung gewahrt. Die Proliferation wird lediglich auf ein niedrigeres oder höheres Niveau ohne Beeinträchtigung bestimmter Zellkollektive eingestellt.

5.) Die Resultate lassen insgesamt den Schluß zu, daß die Hypophyse nicht nur - wie allgemein bekannt ist - an der Steuerung von Wachstumsprozessen, sondern auch an der Organregeneration beteiligt ist und dabei eine wesentliche Beeinflussung der eigenen Zellproliferation erfährt. Dies kann mutmaßlich als ein Zeichen einer starken funktionellen Beanspruchung gedeutet werden. Letzten Endes sind diese Vorgänge wohl mit einer überzellulären regeneratorischen Regulation in Zusammenhang zu bringen.

Tabelle 1

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchym- und der Mesenchymzellen des Hypophysenvorderlappens bei juvenilen, eben ausgewachsenen und senilen Kontrolltieren (vergl. Fig. 1, Seite 18).

juvenile			eben ausgewachsen			senile		
d	Par	Mes	d	Par	Mes	d	Par	Mes
0,5	2,58	2,87	0,5	0,13	0,24	0,5	0,16	0,25
			0,5	1,04	1,49			
1	4,8	6,3	1	0,28	0,38	1	0,44	0,53
			1	1,39	1,76			
1,5	6,59	9,5	1,5	0,68	0,68	1,5	0,40	0,60
			1,5	3,8	2,67			
2	8,56	10,06	2	1,06	0,91	2	0,65	0,81
2	5,77	8,22	2	2,22	2,93			
2,5	8,55	12,5	2,5	2,77	2,98	2,5	0,75	1,19
			2,5	3,76	3,48			
			3	3,4	4,24	3	0,78	1,22
			3	3,15	3,55			
4	13,34	16,83	4	4,22	5,39	4	1,01	1,96
4	14,2	18,4	4	4,03	5,13			
			4	3,82	4,89			
			4	3,94	4,12			
5	16,69	20,86	5	4,42	5,64	5	1,24	1,88
			5,5	4,47	5,9			
6	21,91	25,6				6	1,55	2,12
7	26,35	31,66	7	5,29	6,92	7	1,85	2,76
7	27,16	31,21						
7	27,6	28,6						
10	35,4	44	10	7,60	9,87	10	2,63	3,52
10	43,9	52						
13	49,3	62						
15	55,6	66,6						
16	61,4	71,19						
			20	13,5	18,70	20	5,41	7,8

d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen

Par = Markierungsindex (%) von Parenchymzellen

Mes = Markierungsindex (%) von Mesenchymzellen

Tabelle 2

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchym- und Mesenchymzellen des Hypophysenvorderlappens bei juvenilen, eben ausgewachsenen und senilen 2/3-teilhepatektomierten Ratten (vergl. Fig. 2, Seite 20).

juvenile			eben ausgewachsen			senile		
d	Par	Mes	d	Par	Mes	d	Par	Mes
0,5	3,6	4,03						
0,5	4,01	4,73						
1	3,32	5,05	1	0,82	0,78	1	0,49	0,712
1	6,06	6,8						
1,5	5,14	7,36				1,5	0,47	0,806
1,5	7,78	8,37						
2	8,99	12,08	2	1,39	4,1	2	0,655	1,31
2,5	8,1	11,87	2,5	1,59	2,59	2,5	0,654	1,09
2,5	10,1	12,85	2,5	1,22	1,93			
			2,5	1,24	2,49			
			2,5	0,97	1,96			
			2,5	1,31	2,31			
			2,5	1,15	2,35			
3	11,3	14,45	3	2,49	3,92	3	0,744	1,32
						3,5	0,872	1,775
4	13,26	16,5	4	3,42	5,7	4	0,815	1,62
			4	3,73	5,13	4	1,575	2,19
						4,5	1,622	2,19
5	14,71	17,3				5	1,41	2,32
						5	4,28	4,86
						5,5	1,645	2,405
6	14,65	17,6						
						6,5	1,705	2,4
7	15,0	18,1						
7	15,4	18,6	7,5	3,562	5,52	7,5	1,64	2,38
10	15,7	18,7						
			20	3,61	5,28	20	1,88	2,9

d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen

Par = Markierungsindex (%) der Parenchymzellen

Mes = Markierungsindex (%) der Mesenchymzellen

Tabelle 3

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchym- und Mesenchymzellen des Hypophysenvorderlappens nach temporärer unilateraler Niereni schaemie bzw. unilateraler Nephrektomie eben ausgewachsener Ratten (vergl. Fig. 3, Seite 21).

Nephrektomie eben ausgewachsen			Nierenischaemie eben ausgewachsen		
d	Par	Mes	d	Par	Mes
			0,5	1,75	3,69
1	0,35	1,05	1	2,05	4,51
1,5	1,24	1,91	1,5	2,6	5,78
2	1,66	1,88	2	3,62	6,79
2,5	2,64	3,08	2,5	3,9	8,05
3	4,65	4,98	3	6,4	8,2
3	2,50	3,04			
4	2,61	5,13			
4	4,29	5,09			
4	4,53	5,05			
5	3,64	4,50	5	6,73	8,04
5	4,28	4,89			
6	4,59	5,09	6	5,90	8,10
6	3,70	4,26			
7	4,53	4,95	7	7,1	8,55
7	4,75	5,04			
			8	6,78	8,05
			9	11,8	16,4
			10	18,5	23,2
20	4,85	5,5	20	40,6	47,24
20	4,88	5,01	20	46,5	47,7

d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen

Par = Markierungsindex (%) der Parenchymzellen

Mes = Markierungsindex (%) der Mesenchymzellen

Tabelle 4

Markierungsindex (in Prozent) der Parenchym- und Mesenchymzellen des Hypophysenvorderlappens bei eben ausgewachsenen scheinoperierten Tieren.

Scheinhepatektomie eben ausgewachsen			Scheinnephrektomie eben ausgewachsen			Scheinniereni schaemie eben ausgewachsen		
d	Par	Mes	d	Par	Mes	d	Par	Mes
			9	10, 6	11, 5	8	6, 0	8, 1
20	30, 5	28, 2	20	16, 6	19, 4	20	10, 3	9, 8
20	34, 4	36	20	37, 7	41, 6	20	12, 1	17, 6

d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen

Par = Markierungsindex (%) der Parenchymzellen

Mes = Markierungsindex (%) der Mesenchymzellen

Tabelle 5 (vergl. Fig. 6, Seite 30)

Prozentualer Anteil der verschiedenen DNS-synthetisierenden oder postmitotisch markierten Parenchymzelltypen an der Zahl aller markierten Parenchymzellen; wobei die Zahl aller markierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde; d. i. die Beteiligung der verschiedenen Parenchymzelltypen des HVL an der hypophysären Zellproliferation.

Ch	Ac	Go	Th
83, 9	12, 1	1, 62	2, 48
83, 5	12, 9	1, 48	2, 25
80, 6	12, 5	2, 1	4, 9
84, 2	12	0, 83	2, 8
86	10, 7	1, 18	2, 14
83	12, 3	1, 95	2, 96
82, 9	10, 7	2, 92	3, 41
82, 5	10, 7	2, 56	3, 42
83	12, 7	1, 2	3, 1
83, 2	12, 5	1, 63	2, 61
87	10, 8	0, 89	1, 06
85	10, 4	1, 71	2, 83
84	11, 8	1, 88	2, 34
81, 4	13, 9	2	2, 8
85, 9	11, 1	1, 14	1, 82
85, 3	10, 9	1, 51	2, 29
85, 5	11, 9	0, 93	1, 46
85, 2	12, 3	1, 04	1, 53
84	12, 1	1, 74	1, 3
84 (80, 6-85, 9)	11, 8 (10, 4-13, 9)	1, 6 (0, 83-2, 92)	2, 5 (1, 06-4, 9)

Prozentualer Anteil der verschiedenen Parenchymzelltypen am Gesamtkollektiv aller ausgezählten auch nicht markierten Parenchymzellen, wobei die Zahl aller markierten plus unmarkierten Parenchymzellen = 100 % gesetzt wurde.

Ch	Ac	Go	Th
65, 7	31	1, 32	1, 81
64, 9	32	1, 22	1, 93
63	34, 2	1, 27	1, 58
70, 3	27, 4	0, 98	1, 48
69, 6	28, 2	1, 06	1, 04
69, 5	28, 6	0, 78	1, 06
71, 8	26, 8	0, 66	0, 64
69	28, 9	0, 81	1, 28
62, 8	34, 8	1, 13	1, 09
62, 9	34, 9	0, 86	1, 15
67, 9	29, 8	1, 04	1, 05
66, 2	30, 4	1, 27	1, 6
66, 3	31, 1	1, 2	1, 4
61, 9	35, 1	1, 2	1, 72
65, 8	32	0, 82	1, 29
66, 3	31	1, 16	1, 54
63, 9	34, 2	1	0, 95
63	33, 3	1, 22	1, 89
70, 5	27, 5	1, 36	0, 72
67 (61, 9-71, 8)	31 (26, 8-35, 1)	1, 07 (0, 65-1, 36)	1, 34 (0, 64-1, 93)

Ch = Chromophobe
Ac = Acidophile
Go = Gonadotrope
Th = Thyreotrope

Tabelle 5 (vergl. Fig. 6, Seite 30)

Markierungsindex des gesamten Parenchymzellkollektives (bei HE-Färbg.)=en bloc Ausw.	Markierungsindices der verschiedenen Parenchymzelltypen, d. h. der prozentuale Anteil aller DNS-synthetisierenden oder postmitotisch markierten Kerne an der bestimmten Gesamtzellzahl des jeweiligen Parenchymzelltypes = differenzierte Zellauswertung				d = Radioaktive Versuchszeit in Tagen	Tiere
	Ch	Ac	Go	Th		A KONTROLLEN
55, 6	71, 9	22	69, 3	72, 2	15	a) juvenil
61, 4	73	24, 5	73, 5	70, 8	16	
11, 01	17, 2	4, 06	21, 2	41, 5	20	b) eben ausgewachsen
5, 41	6, 16	2, 26	5, 14	8	20	c) senil
						B TEILHEPATEKTOMIE
15, 7	19, 6	6, 05	17, 75	32, 8	10	a) juvenil
3, 61	4, 1	1, 47	7, 65	9, 6	20	b) eben ausgewachsen
1, 64	2, 02	0, 7	7, 8	9, 34	7, 5	c) senil
1, 88	2, 28	0, 71	6, 06	6, 41	20	
						C NEPHREKTOMIE links
4, 85	6, 5	1, 8	5, 2	14	20	eben ausgewachsen
4, 88	6, 49	1, 76	9, 25	11, 1	20	
						D NIERENISCHAEMIE
18, 5	23, 9	6, 72	15, 7	18, 7	10	eben ausgewachsen
40, 6	55, 1	14, 4	59, 3	75, 8	20	
45, 8	59, 25	17, 8	75	77	20	
						E SCHEINOPERATIONEN
						eben ausgewachsen
30, 5	41, 4	12, 5	53	52	20	a) Scheinhepatektomie
34, 4	48	12, 8	51, 5	51, 9	20	
16, 6	20, 9	5, 7	21, 2	24, 2	20	b) Scheinnephrektomie
37, 7	48, 6	12, 6	34, 7	55, 7	20	
10, 3	14, 4	3, 74	9, 1	8, 63	20	c) Scheinischaemie
12, 1	15, 25	6, 12	16, 4	22, 2	20	

Durchschnitt der jeweilig untereinander stehenden Werte

Herrn Professor Dr. med. E. Stöcker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für seine freundliche Hilfe.

Herrn Professor Dr. med. H.-W. Altmann danke ich sehr für die Übernahme des Korreferates.

LITERATURVERZEICHNIS

ABERCROMBIE, M. und R. D. HARKNESS: The growth of cell populations and the properties in tissue culture of regenerating liver of the rat. Proc. Roy. Soc. London Ser. B., 138, 544 - 561 (1951).

ALTMANN, H.-W.: Der Zellersatz, insbesondere an parenchymatösen Organen. Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 15 - 53 (1966).

BARNUM, C. P., C. O. JARDETZKY und F. HALBERG: Nucleic acid synthesis in regenerating liver. Tex. Rep. Biol. Med. 15, 134 -147 (1957).

CHANG, L. O. and W. B. LOONEY: A biochemical and autoradiographic study of the in vivo utilisation of tritiated thymidine in regenerating rat liver. Cancer Res. 25, 1817 - 1822 (1965).

CRATHORN, A. R. and K. V. SHOOTER: Uptake of thymidine and synthesis of deoxyribonucleic acid in mouse ascites cells. Nature (London) 187, 614 - 615 (1960).

DHOM, G. und E. STÖCKER: Autoradiographische Studien über die DNS-Synthese im Hypophysenvorderlappen der Ratte. Experientia 20, 384 (1964).

- Die DNS-Synthese im Hypophysenvorderlappen der Ratte bei funktioneller Belastung. 11. Sympos. Dtsch. Ges. Endokrinologie, Düsseldorf 1964, Springer: Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York, 298 - 302 (1965).

EVE, Ch. and S. H. ROBINSON: Apparatus for continuous longterm intravenous infusions in small animals. J. Lab. Clin. Med. 62, 169-174, (1963).

FLIEDNER, T. M., R. J. HAAS und H. STEEHLE: Die ^{3}H-Thymidinmarkierung aller Zellkerne neugeborener Ratten (eine Methode zur zytokinetischen Differenzierung von schnell und langsam proliferierenden Zellsystemen). XII. Sympos. Ges. Histochem., Gent, 22.-26. 9. 1967, Acta Histochem., Suppl. VIII, 231 - 256 (1968).

HIGGINS, G. M. und R. M. ANDERSON: Experimental pathology of the liver. Restoration in the liver of the white rat following partial surgical removal. Arch. Path., 12, 186 - 202 (1931).

HÜBNER, K.: Veränderungen der DNS-Synthese in der Niere nach vorausgegangener temporärer Ischaemie. Verh. Dtsch. Ges. Path., 48, 273 - 279 (1964).

- Kompensatorische Hypertrophie, Wachstum und Regeneration der Rattenniere. Ergeb. Path. Anat. 48, 1 - 80 (1967).

HUGHES, W.L., V.P. BOND, G. BRECHER, E. P. CRONKITE, R. B. PAINTER, H. QUASTLER and F. G. SHERMAN: Cellular proliferation in the mouse as revealed by autoradiography with tritiated thymidine. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 44, 476 - 483 (1958).

JOHNSON, H. A., J. R. RUBINI, E. P. CRONKITE and V. P. BOND: Labeling of human tumor cells in vivo by tritiated thymidine. Lab. Invest. 9, 460 - 465 (1960).

KNUTSON, F.: On the cellular site of corticotrophin production. Acta Endocrinol. 52, 305 - 318 (1966).

- The rat adenohypophysis during increased corticotrophin production. Acta Endocrinol. Supp. 112, 1-78 (1966).

KOBURG, E.: The use of grain counts in the study of cell proliferation. In: Cell Proliferation, eds. Lamerton, L. F. and R. J. M. Fry, pp. 62 - 76, Blackwell sci. Publ., Oxford (1963).

KOBURG, E. und B. SCHULTZE: Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese, der Ruhephase und der Mitose bei proliferierenden Systemen wie den Epithelien des Darmes, des Oesophagus und der Cornea der Maus. Verh. dtsch. Ges. Path. 45, 103-107 (1961).

KOBURG, E. und W. MAURER: ^{3}Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus. Biochim. Biophys. Acta 61, 229 - 242 (1962).

LÖBBECKE, E. A., B. SCHULTZE und W. MAURER: Variability of generation time within fetal cell types of the rat examined with continuous infusion of H-3-thymidine. Exptl. Cell Res. 55, 176 - 184 (1969).

LOONEY, W. B.: A cytochemical and autoradiographic study of deoxyribonucleic acid synthesis in individual nuclei and the effects of irradiation on synthesis. In: The cell nucleus, ed. J. S. Mitchell, pp. 98 - 125, Butterworths, London-Toronto-Sidney-Wellington-Durban, 1960.

LOONEY, W. B.: Dependence of DNA synthesis on Irradiation dose rate. Nature (London) 205, 1334 - 1336 (1965 a).

- The effects of radiation on mammalian cells. Radiol. Clin. N. A. 3, 209-217 (1965 b).

MAURER, W. und E. KOBURG: ^{3}Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin über den zeitlichen Verlauf der DNS-Synthese bei den Epithelien des Darmes und bei anderen Zellarten der Maus. Verh. Dtsch. Ges. Path. 45, 108-112 (1961).

NEUMANN-REDLIN, E.: Zur Proliferation der kompensatorisch regenerierenden Niere nach kontralateraler Nephrektomie. Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin-Dauerinfusion. Inaug. Diss. Würzburg 1969.

OTTO, G.: Zur reparativen und kompensatorischen Nierenregeneration. ^{3}Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin nach temporärer unilateraler Nierenischaemie an Ratten. Inaug. Diss. Würzburg 1970.

PELC, S. R.: Autoradiograph Technique. Nature (London) 160, 749-750 (1947).

- The stripping film technique of autoradiography. Int. J. appl. Radiat. 1, 172-177 (1956).

PELC, S. R. and T. C. APPLETON: Distribution of tritiated thymidine in various tissues. Nature 205, 1287 - 1289 (1965).

POTTER, V. R.: Metabolic products formed from thymidine. In: The kinetics of cellular proliferation, ed. E. Stohlman, pp. 104 - 110, Grune and Stratton, New York and London 1959.

PURVES, H. D. und H. E. GRIESBACH: Changes in the gonadotrophs of the rat pituitary after gonadectomy. Endocinology 56, 374 - 386 (1955).

- Changes in the basophil cells of the rat pituitary after thyroidectomy. J. Endocr. 13, 365 - 375 (1956).

RABES, H.: Influence of hypophysectomy on proliferation of normal and malignant cells. 2. Meeting European study group for cell proliferation, Schloss Reisensburg, 2. - 4. Okt. 1968.

RABES, H., H. WRBA und H. BRÄNDLE: Synthesis of deoxyribonucleic acid in the liver of hypophysectomized rats after partial hepatectomy. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 120, 244 - 246 (1965).

RABES, H., H. WRBA, M. EDER und H. BRÄNDLE: DNS-Synthese und Cytoplasmaveränderungen bei der Leberregeneration nach Hypophysektomie. Z. Naturforsch. 20 B, 607 - 608 (1965).

REICHARD, P. and B. ESTBORN: Utilization of deoxyribosides in the synthesis of polynucleotides. J. Biol. Chem. 188, 839 - 846 (1951).

SCHULTZE, B.: Autoradiographische Untersuchungen der Eiweiß-, Ribonukleinsäure- und Desoxyribonukleinsäure-Synthese der Zelle. (Bericht über Technik und Ergebnisse der Tritium-Autoradiographie). Habil. Schrift Würzburg, 1966.

- Die Orthologie und Pathologie des Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: Hdb. allg. Pathol. Band II/5, pp. 466 - 670, Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1968).

SCHULTZE, B., E. A. LÖBBECKE und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchungen zur Variabilität der Generationszeit von fetalen Zellarten der Ratte mit Hilfe von Dauerinfusionen mit H^3-Thymidin.

din Vortrag XII. Symp. Ges. Histochem. Gent, 1967. Acta Histochem. Supp. 8, 351-357 (1968).

SIPERSTEIN, Eleanor R.: Identification of the adrenocorticotrophin -producing cells in the rat hypophysis bei autoradiography. J. Cell Biol. 17, 521 - 546 (1963).

STAROSCIK, R. N., W. H. JENKINS and M. L. MENDELSOHN: Availability of tritiated thymidine after intravenous administration. Nature 202, 456 - 458 (1964).

STÄDTLER, F., E. STÖCKER and H. U. TIETZE: DNA- and RNA-synthesis in the anterior pituitary of castrated rats. Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 138, 199 (1969).

STÄDTLER, F., E. STÖCKER, G. DHOM and H. U. TIETZE: Autoradiographic studies on nuclear DNA- and RNA-synthesis in the adenohypophysis of castrated rats. Acta Endocrinologica 64, 324 - 338 (1970).

STÖCKER, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 53 - 74 (1966).

STÖCKER, E., K. KABUS und G. DHOM: Autoradiographische Untersuchungen über die DNS-Synthese in der Nebenniere kastrierter und thyreoidektomierter Ratten. Z. Zellforsch. 72, 1 - 11 (1966).

STÖCKER, E. und H. WITSCHEL: Nukleare DNS-Synthese im Funktionsformwechsel des exokrinen Pankreas der Maus. Naturwissenschaften 54, 343 (1967).

STÖCKER, E., E. NEUMANN-REDLIN und W.-D. HEINE: Zur kompensatorischen Nierenregeneration. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}-H-Thymidin-Dauerinfusion. Experientia 24, 463 - 464 (1968).

STÖCKER, E., W.-D. HEINE und F.-J. LÖFFLER: Zur Zellproliferation im Hypophysenvorderlappen während der Leber- und Nierenregeneration. Verh. Dtsch. Ges. Path. 53, 436 - 440 (1969).

TIETZE, H. U., E. STÖCKER, G. DHOM und F. J. ROTH: Autoradiographische Untersuchungen zur DNS-Synthese und zum Proliferationsmodus im Hypophysenvorderlappen kastrierter und thyreoidektomierter Ratten. 14. Sympos. Dtsch. Ges. Endokrinol. Heidelberg 1968, Springer: Berlin-Heidelberg-New York, 315 - 318 (1968).

WENZEL, G.: DNS-Synthese und Proliferationsumfang im exokrinen Pankreas der Ratte. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin. Inaug. Diss. Würzburg, im Druck.

ZAJICEK, G., N. BERNSTEIN, A. ROSIN and J. GROSS: Studies on the in vitro incorporation of tritiated thymidine into ascites tumor cells. Exptl. Cell Res. 31, 390 - 396 (1963).

Lebenslauf

Am 20. Februar 1944 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. Franz Löffler und seiner Ehefrau Ilse, geb. Schmidhuber, in Marienburg (Westpreußen) geboren. Nach der Vertreibung 1945 führte uns die Flucht in das Elternhaus meines Vaters in seinem Geburtsort Klein Giesen (bei Hildesheim).

Seit 1950 besuchte ich die Volksschule Klein Giesen, danach das Gymnasium Josephinum zu Hildesheim. Hier legte ich im Frühjahr 1963 die Reifeprüfung ab.

Ich studierte Medizin in Würzburg und Kiel. Das Physikum bestand ich 1966 und das Medizinische Examen 1969 in Würzburg.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe. Weiterhin versichere ich ehrenwörtlich, daß ich von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Franz-Jochen Löffler

Schnelldruck - Böhler, 87 Würzburg, Wirsbergstraße 10